

Screening in einem Rutsch mit dem Slipchip

Detlev Belder*

Hochdurchsatz-Screening · Lab-on-a-Chip ·
Mikrofluidik · Tröpfchen

Die Verheißungen mikrofluidischer Chip-Laboratorien, bei denen chemische Systeme in den Mikro-Maßstab geschrumpft werden, sind groß. Solch miniaturisierte Systeme, in denen chemische Prozesse in haarfeinen Mikrokanälen oder Kavitäten stattfinden, eignen sich wegen des sehr geringen Substanzverbrauches, der vereinfachten Parallelisierung und der hohen Prozessgeschwindigkeit besonders gut zum Hochdurchsatz-Screening. Schwierig sind in mikrofluidischen Systemen jedoch der gezielte Transport und das Dosieren von Flüssigkeiten im Nanoliter-Maßstab. In der makroskopischen Welt werden diese Abläufe mithilfe von Ventilen und Pumpen realisiert, es ist jedoch nicht einfach, solche Bauteile in mikrofluidische Chips zu integrieren. In der Mikrowelt sind häufig solche Systeme am robustesten, die ohne bewegliche mechanische Bauteile auskommen. Bei mikrofluidischen Systemen ist dies am einfachsten zu verwirklichen, wenn Flüssigkeiten allein durch Kapillarkräfte und/oder elektrische Potentiale mithilfe von Elektrophorese und Elektroosmose bewegt werden können, wie im Fall der bereits kommerzialisierten Mikrochip-Elektrophorese. Allerdings lassen sich vielzählige chemische Prozesse kaum ohne Ventile und Pumpen in den Mikro-Maßstab überführen. Zur Überwindung dieser Hürde gibt es viele bemerkenswerte Ansätze, in denen durch Anwendung immer ausgefeilterer mikrosystemtechnischer Methoden versucht wird, Mikromechanik und Mikrofluidik auf einem Chip zu integrieren.

Kürzlich ist nun ein bemerkenswert einfacher Ansatz zum Chip-basierten Hochdurchsatz-Screening im Nanoliter-Maßstab beschrieben worden, der sich wesentlich von solchen aufwändigen mikrosystemtechnischen Meisterleistungen unterscheidet. In dem Slipchip genannten System können unterschiedliche Flüssigkeitskompartimente, die sich zwischen zwei mikrostrukturierten Glasplatten befinden, durch einfaches Verschieben der Platten vereinigt werden. Das Prinzip der Steuerung von Flüssigkeitsströmen mithilfe beweglicher strukturierter Platten ist altbekannt, z. B. bei HPLC-Ventilen, und auch in Produkten des täglichen Lebens zu finden, etwa bei Schiebeventilen aus dem Sanitärbereich. In der Literatur sind bereits erste Ansätze beschrieben worden,^[1] dieses einfache und wirkungsvolle Prinzip zum Mischen von Flüssigkeiten in miniaturisierten Systemen zu nutzen. Infolge der

kürzlich erschienen Publikationen aus der Gruppe um Ismagilov^[2] könnte sich dieser Ansatz hin zu einer neuen Mikrofluidik-Plattform entwickeln, mit ganz neuen Möglichkeiten zur Realisierung robuster Chip-Laboratorien. Das von Ismagilov et al. vorgestellte Prinzip des Slipchips ist in einer einfachen Ausführungsform^[2a] in Abbildung 1 gezeigt.

Das System besteht aus zwei mikrostrukturierten Glasplatten mit Kavitäten und Kanälen, die als Reservoir und im zusammengefügt Zustand auch als Flusskanäle dienen. Durch Verschieben der Platten können sich durch Ergänzung von Strukturen in der Ober- und Unterplatte Mikrokanäle bilden, die zum Eintrag von Reagentien genutzt werden (Abbildung 1 a–d). Durch ein weiteres Verschieben der Platten können nun parallelisiert Reagens und Probenlösung vermischt werden. Dies kann man z. B. dazu nutzen, viele verschiedene Proben im wahrsten Sinne des Wortes in einem Rutsch mit einer Reagenslösung zu versetzen. Ein interessantes Anwendungsgebiet für solche parallelisierten Mikrobatches-Versuche ist das Screening nach geeigneten Kristallisationsmedien für die Proteinkristallographie. Wie schon beim verwandten, tröpfchenbasierten System^[3] konnte die Arbeitsgruppe auch hier die Wirksamkeit des Slipchip-Systems demonstrieren. Das in Abbildung 1 gezeigte Slipchip-System besticht durch seine Einfachheit und ist nach Aussagen der Autoren auch besonders für den Einsatz in einem ressourcenarmen Umfeld geeignet. Allerdings müssten die Chips in diesem Fall wegen der technisch anspruchsvollen Beladung bereits vorkonfektioniert beim Nutzer eintreffen, was dann jedoch die Lagerfähigkeit der Reagentien voraussetzt. Vor kurzem wurde nun ein weiterentwickeltes Slipchip-System vorgestellt, das diese Limitierungen nicht nur umgeht und nun vom Nutzer befüllt werden kann, sondern durch geschickte Anordnung der Mikrostrukturen auch komplexere chemische Operationen auf einem Slipchip ermöglicht.^[2b] Hierzu kommen statt einfacher, gleichförmiger Mikrostrukturen komplexere Strukturen zum Einsatz, womit z. B. durch Variation der Kavitätgrößen unterschiedliche Mischungsverhältnisse definiert werden. Solch ein komplexerer Chip, in dem Proben parallelisiert mit Reagentien in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen vereint werden, ist in Abbildung 2 gezeigt.

Den Autoren gelang es, mit nur 12 µL Proteinlösung 480 verschiedene Kristallisationsversuche durchzuführen. Durch Hochskalieren der erfolgreichen Chipexperimente in Mikrotrichterplatten konnten Proteinkristalle hoher Qualität für die Röntgenstrukturanalyse erhalten werden.^[2c]

[*] Prof. Dr. D. Belder
Institut für Analytische Chemie, Universität Leipzig
Johannisallee 29, 04103 Leipzig (Deutschland)
Fax: (+49) 341-973-6115
E-Mail: belder@uni-leipzig.de

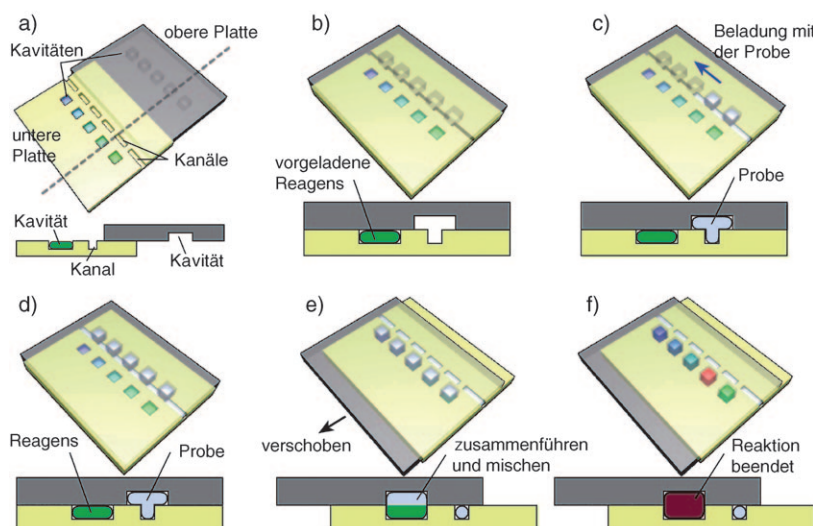


Abbildung 1. Schritt-für-Schritt-Darstellung der Funktionsweise des Slipchips nach Du et al.^[2a]

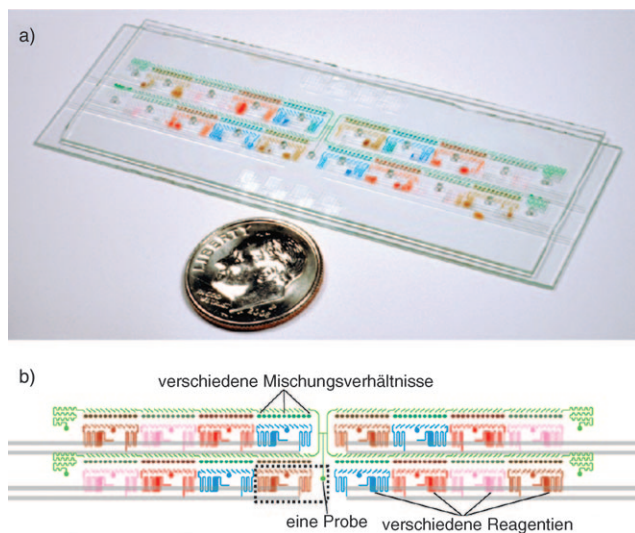


Abbildung 2. Photo eines mit Lebensmittelfarben gefüllten Chips (a) und Schemazeichnung der Mikrostrukturen (b) eines vom Benutzer beladbaren Slipchips, mit dem eine Probe (grün) gegen 16 unterschiedliche Reagenzien (andere Farben) in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen getestet werden kann (nach Li et al.^[2b]).

Wegen des großen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses ist in allen mikrofluidischen Systemen die Unterdrückung der Wechselwirkung von Substanzen mit der Wand äußerst schwierig. Bei dem Slipchip-Ansatz wird dieses Problem, das unter anderem zur Substanzverschleppung führen kann, umgangen, indem ähnlich wie bei der Tröpfchenmikrofluidik oberflächenbenetzende fluorierte Kohlenwasserstoffe eingesetzt werden. Zudem wurden die Chipoberflächen durch Oberflächenbeschichtung und Nanostrukturierung hydrophobisiert und die Kavitäten zum Teil hydrophilisiert.

Dieser Slipchip eignet sich nicht nur für die Proteinkristallographie, sondern ist auch zur Durchführung eines Immunassays im Nanoliter-Maßstab eingesetzt worden.^[2d] Das

Eindrucksvolle an dieser neuesten Weiterentwicklung des Slipchip-Ansatzes ist, dass nun auch mehrstufige Prozesse durchgeführt werden können. Dies wurde anhand eines auf magnetischen Mikropartikeln basierenden Immunassays demonstriert, in dem die Prozesse zur Bildung des Sandwichkomplexes (Abbildung 3a,b) mit nachfolgendem Waschen (Abbildung 3c,d) und zur Detektion (Abbildung 3e) durch wiederholtes Verschieben der Chips ablaufen.

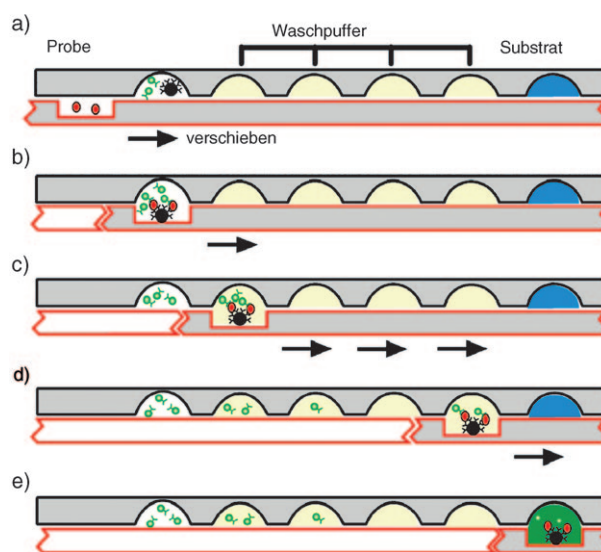


Abbildung 3. Durchführung eines mehrstufigen Immunassays einschließlich mehrfacher Waschschrirte und Detektion (e) mit einem Slipchip (nach Liu et al.^[2d]).

Das chemische Programm, das ablaufen soll, wird also gleichsam als Mikrostruktur in die Substrate geschrieben und durch Verschieben der Platten gestartet, was an die Programmierung mithilfe von Lochkarten aus den Anfängen der Datenverarbeitung erinnert. Durch die Bewegung der mikrostrukturierten Platten werden in einer festgelegten Se-

quenz Mikrokavitäten vereinigt und wieder verschlossen sowie mikrofluidische Fließwege generiert, geöffnet und abgesperrt.

Das Prinzip des Slipchips erinnert an ein Ventil, und so sollte es möglich sein, diesen Ansatz außer für die vorgestellten Anwendungen auch für den Aufbau von robusten mikrofluidischen Systemen mit komplexeren Funktionen zu nutzen. So könnte man Flüsse in gestapelten mikrofluidischen Chips gezielt zwischen unterschiedlichen Funktionsebenen dosieren, um so der Realisierung eines integrierten chemischen Schaltkreises^[4] näher zu kommen.

Solche Systeme könnten hochinteressant sein, um z. B. die mehrdimensionale HPLC in mikrofluidischen Chips zu verwirklichen. So könnte also die Lösung des Problems der Kombination der Chip-Mikrofluidik mit robusten Ventilen darin liegen, die Mikrofluidik-Struktur in ein makroskopisches Ventil zu integrieren, statt das Ventil in den Chip zu schrumpfen, also sozusagen ein „Lab-on-a-Valve“ zu erschaffen. Eine schwierige Aufgabe wird in diesem Zusam-

menhang allerdings die hochdruckfeste, verschleißfreie Verbindung sein, was bereits bei konventionellen HPLC-Ventilen materialtechnisch anspruchsvoll ist.

Eingegangen am 7. April 2010

Online veröffentlicht am 19. Juli 2010

-
- [1] a) R. Moerman, J. Knoll, C. Apetrei, L. R. van den Doel, G. W. K. van Dedem, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 225–231; b) X. Zhou, L. Lau, W. W. L. Lam, S. W. N. Au, B. Zheng, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 4924–4930.
 - [2] a) W. Du, L. Li, K. P. Nichols, R. F. Ismagilov, *Lab Chip* **2009**, 9, 2286–2292; b) L. Li, W. Du, R. F. Ismagilov, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 106–111; c) L. Li, W. Du, R. F. Ismagilov, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 112–119; d) W. Liu, D. Chen, W. Du, K. P. Nichols, R. F. Ismagilov, *Anal. Chem.* **2010**, 82, 4606–4612.
 - [3] B. Zheng, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 2576–2579; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 2520–2523.
 - [4] D. Belder, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 3790–3791; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 3736–3737.
-